

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

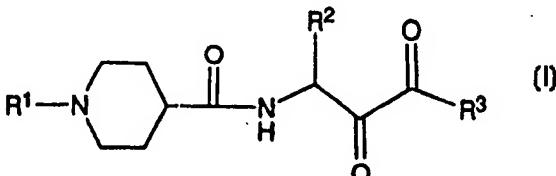
(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <b>C07D 211/62, 401/12, A61K 31/445</b>		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 98/16512</b>
			(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: <b>23. April 1998 (23.04.98)</b>
(21) Internationales Aktenzeichen: <b>PCT/EP97/05202</b>		(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, GE, HU, ID, IL, JP, KR, KZ, LT, LV, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TR, UA, US, eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: <b>23. September 1997 (23.09.97)</b>		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	
(30) Prioritätsdaten: 196 42 591.3 15. Oktober 1996 (15.10.96) DE			
(71) Anmelder ( <i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i> ): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).			
(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder ( <i>nur für US</i> ): LUBISCH, Wilfried [DE/DE]; E 7.25, D-68159 Mannheim (DE). MÖLLER, Achim [DE/DE]; Im Zaunrücken 10, D-67269 Grünstadt (DE). DELZER, Jürgen [DE/DE]; Franz-Stützel-Strasse 78, D-67346 Speyer (DE).			
(74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).			

(54) Title: NEW DERIVATES FROM PIPERIDINE-KETO ACID, THEIR PREPARATION AND USE

(54) Bezeichnung: NEUE PIPERIDIN-KETOCARBONSÄURE-DERivate, DEREN HERSTELLUNG UND ANWENDUNG

(57) Abstract

Disclosed are piperidine-keto acid derivates of general formula (I) and their tautomeric and isomeric forms, as well as their physiologically well tolerated salts, where R<sup>1</sup> can mean -CO-R<sup>4</sup>, -SO<sup>2</sup>-R<sup>4</sup>, -CONH-R<sup>4</sup>, -COOR<sup>4</sup>, -C(=N)-R<sup>4</sup>, -C(=O)-NHR<sup>4</sup> and -C(=S)-NHR<sup>4</sup>; R<sup>2</sup> can have the meaning -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-alkyl, whether branched or not, and can still carry a phenyl, a pyridine or a naphthyl-ring, which can possibly be substituted with no more than two R<sup>5</sup> residues, while R<sup>5</sup> C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, whether branched or not, can mean -O-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, OH, Cl, F, Br, J, CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CN, COOH, COO-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, -NHCO-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, -NHCOPh, -NHSO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, NHSO<sub>2</sub>-Ph, -SO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl and -SO<sub>2</sub>Ph; and R<sup>3</sup> can mean -OR<sup>6</sup> and -NHR<sup>6</sup>. The preparation of the inventive compounds and their use as drug products are also disclosed.



(57) Zusammenfassung

Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der allgemeinen Formel (I) und ihre tautomeren und isomeren Formen, sowie physiologisch verträgliche Salze davon, worin R<sup>1</sup> -CO-R<sup>4</sup>, -SO<sup>2</sup>-R<sup>4</sup>, -CONH-R<sup>4</sup>, -COOR<sup>4</sup>, -C(=N)-R<sup>4</sup>, -C(=O)-NHR<sup>4</sup> und -C(=S)-NHR<sup>4</sup>; R<sup>2</sup> -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, und der noch einen Phenyl, Pyridin oder Naphthyl-Ring tragen kann, der seinerseits mit maximal zwei Resten R<sup>5</sup> substituiert sein kann, wobei R<sup>5</sup> C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, -O-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, OH, Cl, F, Br, J, CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CN, COOH, COO-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, -NHCO-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, -NHCOPh, -NHSO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, NHSO<sub>2</sub>-Ph, -SO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl und -SO<sub>2</sub>Ph bedeuten kann; R<sup>3</sup> -OR<sup>6</sup> und -NHR<sup>6</sup>; Herstellung dieser Verbindungen und deren Verwendung als Arzneimittel.

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Oesterreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Neue Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate, deren Herstellung und Anwendung

5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft neuartige Ketoester und Ketoamide, die Inhibitoren von Enzymen, insbesondere Cystein-Proteasen, wie Calpain (= Calcium dependant cysteine proteases) 10 und dessen Isoenzyme und Cathepsine, zum Beispiel B und L, darstellen.

Calpaine stellen intracelluläre, proteolytische Enzyme aus der Gruppe der sogenannten Cystein-Proteasen dar und werden in vielen 15 Zellen gefunden. Das Enzym Calpain wird durch erhöhte Kalziumkonzentration aktiviert, wobei man zwischen Calpain I oder  $\mu$ -Calpain, das durch  $\mu$ -molare Konzentrationen von Calcium-Ionen aktiviert wird, und Calpain II oder m-Calpain, das durch m-molare Konzentrationen von Kalzium-Ionen aktiviert wird, unterscheidet 20 (P.Johnson, Int.J.Biochem. 1990, 22(8), 811-22). Heute werden noch weitere Calpain-Isoenzyme postuliert (K.Suzuki et al., Biol.Chem. Hoppe-Seyler, 1995, 376(9), 523-9).

Man vermutet, daß Calpaine in verschiedenen physiologischen Prozessen eine wichtige Rolle spielen. Dazu gehören Spaltungen von regulatorischen Proteinen wie Protein-Kinase C, Cytoskelett-Proteine wie MAP 2 und Spektrin, Muskelproteine, Proteinabbau in rheumatoider Arthritis, Proteine bei der Aktivierung von Plättchen, Neuropeptid-Metabolismus, Proteine in der Mitose und weitere, die in M.J.Barrett et al., Life Sci. 1991, 48, 1659-69 und K.K.Wang et al., Trends in Pharmacol.Sci., 1994, 15, 412-9 aufgeführt sind.

Bei verschiedenen pathophysiologischen Prozessen wurden erhöhte 35 Calpain-Spiegel gemessen, zum Beispiel: Ischämien des Herzens (z.B. Herzinfarkt), der Niere oder des Zentralnervensystems (z.B. Hirnschlag), Entzündungen, Muskeldystrophien, Katarakten der Augen, Verletzungen des Zentralnervensystems (z.B. Trauma), Alzheimer Krankheit usw. (siehe K.K. Wang, oben). Man vermutet einen Zusammenhang dieser Krankheiten mit erhöhten und anhaltenden intrazellulären Kalziumspiegeln. Dadurch werden kalziumabhängige Prozesse überaktiviert und unterliegen nicht mehr der physiologischen Regelung. Dementsprechend kann eine Überaktivierung von Calpainen auch pathophysiologische Prozesse auslösen.

Daher wurde postuliert, daß Inhibitoren der Calpain-Enzyme für die Behandlung dieser Krankheiten nützlich sein können. Verschiedene Untersuchungen bestätigen dies. So haben Seung-Chyul Hong et al., Stroke 1994, 25(3), 663-9 und R.T.Bartus et al., 5 Neurological Res. 1995, 17, 249-58 eine neuroprotektive Wirkung von Calpain-Inhibitoren in akuten neurodegenerativen Störungen, wie sie nach Hirnschlag auftreten, gezeigt. Ebenso nach experimentellen Gehirntraumata verbesserten Calpain-Inhibitoren die Erholung der auftretenden Gedächtnisleistungsdefizite und neuro-motrischen Störungen (K.E. Saatman et al. Proc.Natl.Acad.Sci. USA, 1996, 93, 3428-3433). C.L.Edelstein et al., Proc.Natl.Acad.Sci. USA, 1995, 92, 7662-6, fand eine protektive Wirkung von Calpain-Inhibitoren auf durch Hypoxie geschädigten Nieren. Yoshida, Ken Ischi et al., Jap.Circ.J. 1995, 59(1), 40-8, konnten 10 günstige Effekte von Calpain-Inhibitoren nach cardialen Schädigungen aufzeigen, die durch Ischämie oder Reperfusion erzeugt wurden. Da Calpain-Inhibitoren die Freisetzung von dem  $\beta$ -AP4-Protein hemmen, wurde eine potentielle Anwendung als Therapeutikum der Alzheimer Krankheit vorgeschlagen (J.Higaki et al., 15 Neuron, 1995, 14, 651-59). Die Freisetzung von Interleukin-1 $\alpha$  wird ebenfalls durch Calpain-Inhibitoren gehemmt (N.Watanabe et al., Cytokine 1994, 6(6), 597-601). Weiterhin wurde gefunden, daß Calpain-Inhibitoren cytotoxische Effekte an Tumorzellen zeigen (E.Shiba et al. 20th Meeting Int.Ass.Breast Cancer Res., Sendai 20 Jp, 1994, 25.-28.Sept., Int.J.Oncol. 5(Suppl.), 1994, 381).

Weitere mögliche Anwendungen von Calpain-Inhibitoren sind in K.K.Wang, Trends in Pharmacol.Sci., 1994, 15, 412-9, aufgeführt.

30 Calpain-Inhibitoren sind in der Literatur bereits beschrieben worden. Überwiegend sind dies jedoch entweder irreversible oder peptidische Inhibitoren. Irreversible Inhibitoren sind in der Regel alkylierende Substanzen und haben den Nachteil, daß sie im Organismus unselektiv reagieren oder instabil sind. So zeigen 35 diese Inhibitoren oft unerwünschte Nebeneffekte, wie Toxizität, und sind danach in der Anwendung eingeschränkt oder nicht brauchbar. Zu den irreversiblen Inhibitoren kann man zum Beispiel die Epoxide E 64 (E.B.McGowan et al.. Biochem.Biophys.Res.Commun. 1989, 158, 432-5),  $\alpha$ -Halogenketone ( H.Anglicher et al., 40 J.Med.Chem. 1992, 35, 216-20) oder Disulfide (R.Matsueda et al., Chem.Lett. 1990, 191-194) zählen.

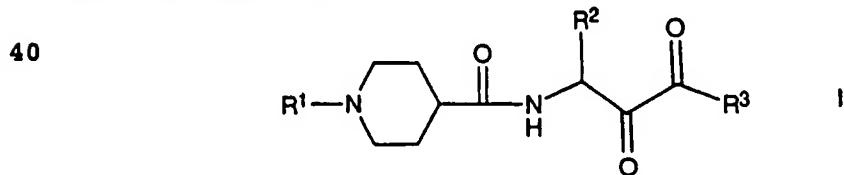
Viele bekannte reversible Inhibitoren von Cystein-Proteasen wie Calpain stellen peptidische Aldehyde dar, insbesondere dipeptidische und tripeptidische Aldehyde wie zum Beispiel Z-Val-Phe-H (MDL 28170) (S.Mehdi, Trends in Biol.Sci. 1991, 16, 150-3) und die Verbindungen aus EP 520336. Unter physiologischen Bedingungen

haben peptidische Aldehyde den Nachteil, daß sie auf Grund der großen Reaktivität häufig instabil sind, schnell metabolisiert werden können und zu unspezifischen Reaktionen neigen, die die Ursache von toxischen Effekten sein können ( J.A.Fehrentz und 5 B.Castro, Synthesis 1983, 676-78). Die Verwendung von peptidischen Aldehyden in der Behandlung von Krankheiten ist somit nur eingeschränkt oder nicht sinnvoll. Es überrascht somit nicht, daß nur wenige Aldehyde als Wirkstoffe eingesetzt werden und zwar vor allem dann, wenn die Aldehyd-Gruppe stabilisiert wird, zum Beispiel 10 durch Halbacetalbildung.

Einen Fortschritt stellt die Entdeckung dar, daß bestimmte peptidische Keton-Derivate ebenfalls Inhibitoren von Cystein-Proteasen und insbesondere Calpain darstellen. So sind zum Beispiel bei 15 Serin-Proteasen Keton-Derivate als Inhibitoren bekannt, wobei die Keto-Gruppe von einer elektronenziehenden Gruppe wie CF<sub>3</sub> aktiviert wird. Bei Cystein-Proteasen sind Derivate mit durch CF<sub>3</sub> oder ähnlichen Gruppen aktivierte Ketone wenig oder nicht wirksam (M.R.Angelastro et al., J.Med.Chem. 1990, 33, 11-13). Über- 20 raschenderweise konnten bei Calpain bisher nur Keton-Derivate, bei denen einerseits α-ständige Abgangsgruppen eine irreversible Hemmung verursachen und andererseits ein Carbonsäure-Derivat die Keto-Gruppe aktiviert, als wirksame Inhibitoren gefunden werden (siehe M.R.Angelastro et al., siehe oben; WO 92/11850; WO 25 92,12140; WO 94/00095 und WO 95/00535). Jedoch sind von diesen Ketoamiden und Ketoestern bisher nur peptidische Derivate als wirksam beschrieben worden (Zhaozhao Li et al., J.Med.Chem. 1993, 36, 3472-80; S.L.Harbenson et al., J.Med.Chem. 1994, 37, 2918-29 und siehe oben M.R.Angelastro et al.).

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, nicht-peptidische Inhibitoren bereitzustellen, die sich von den stabileren Ketonen ableiten und die die allgemeinen Probleme von Peptiden (metabolische Stabilität, schlechte Überwindung der Zellmembranen usw.) 30 nicht aufweisen.  
35

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Piperidin-Ketocarbon-säure-Derivate der Formel I



## 4

und ihre tautomeren und isomeren Formen, sowie mögliche physiologisch verträgliche Salze, worin die Variablen folgende Bedeutung haben:

5 R<sup>1</sup> -CO-R<sup>4</sup>, -SO<sub>2</sub>-R<sup>4</sup>, -CONH-R<sup>4</sup>, COOR<sup>4</sup>, -C(=N)-R<sup>4</sup>, -C(=O)-NHR<sup>4</sup> und -C(=S)-NHR<sup>4</sup> bedeutet;

10 R<sup>2</sup> -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, und der noch einen Phenyl, Pyridin oder Naphthyl-Ring tragen kann, der seinerseits mit maximal zwei Resten R<sup>5</sup> substituiert sein kann,  
wobei R<sup>5</sup> C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt,  
-O-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, OH Cl, F, Br, J, CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CN, COOH,  
COO-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, -NHCO-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, -NHCOPh,  
NHSO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, NHSO<sub>2</sub>Ph, -SO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl und -SO<sub>2</sub>Ph bedeuten kann;

15 R<sup>3</sup> -OR<sup>6</sup> und -NHR<sup>6</sup> bedeutet;

20 R<sup>4</sup> -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, wobei eine Kette aus zwei oder mehr C-Atomen auch eine Doppelbindung oder Dreifachbindung enthalten kann und mit einem oder zwei Ringen wie Phenyl, Naphthalin, Chinoxalin, Chinolin, Isochinolin, Pyridin, Thiophen, Benzothiophen, Benzofuran, Pyrimidin, Thiazol, Isothiazol, Triazol, Imidazol, Cyclohexyl, Cyclopentyl, Fluoren, Indol, Benzimidazol, Oxazol, Isooxazol und Furan substituiert sein kann, wobei jeder der Ringe selbst noch maximal zwei Reste R<sup>5</sup> tragen kann;

25 R<sup>6</sup> Wasserstoff, einen Phenyl-Ring, der noch einen oder zwei Reste R<sup>5</sup> tragen kann, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, das eine Doppelbindung oder eine Dreifachbindung enthalten kann, und einen Ring wie Phenyl, Naphthalin, Pyridin, Pyrimidin, Piperidin, Pyrrolidin, Morpholin, Thiophen, Chinolin und Isochinolin tragen kann, wobei die aromatischen Ringe noch maximal zwei Reste -NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup> oder R<sup>5</sup> tragen können, wobei R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> unabhängig voneinander Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, bedeuten kann.

Bevorzugt werden die Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der allgemeinen Formel I, gemäß dem obigen Anspruch, für die

40 R<sup>1</sup> -C(=O)R<sup>4</sup>, -SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>.

45 R<sup>2</sup> C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt und unverzweigt,  
-CH<sub>2</sub>-Ph und -CH<sub>2</sub>-Pyridyl,

5

R<sup>3</sup> -OR<sub>6</sub> und -NHR<sub>6</sub> bedeuten und

R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> und R<sub>6</sub> die Bedeutung gemäß dem obigen Anspruch haben.

5

Besonders bevorzugt werden die Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der allgemeinen Formel I, gemäß dem obigen Anspruch, für die

R<sup>1</sup> -C(=O)R<sup>4</sup>, -SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>,

10

R<sup>2</sup> -C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl und -CH<sub>2</sub>- Ph,

R<sup>3</sup> -NHR<sup>6</sup>,

15

R<sup>4</sup> -CH=CH-R<sup>9</sup> bedeutet, wobei R<sup>9</sup> ein Phenyl, Naphthalin oder Chinolin sein kann, und

R<sup>6</sup> Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, das mit einem Phenyl, Pyridin oder Morpholin substituiert sein kann,

20

bedeuten

Die Verbindungen der Formel I können als Racemate oder als enantiomerenreine Verbindung oder als Diastereomere eingesetzt werden. Werden enantiomerenreine Verbindungen gewünscht, kann man 25 diese beispielsweise dadurch erhalten, daß man mit einer geeigneten optisch aktiven Base oder Säure eine klassische Racematspaltung mit den Verbindungen der Formel I oder ihren Zwischenprodukten durchführt.

30 Gegenstand der Erfindung sind auch zu Verbindungen der Formel I mesomere oder tautomere Verbindungen, beispielsweise solche, bei denen die Keto-Gruppe der Formel I als Enol-Tautomeres vorliegt.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind die physiologisch 35 verträglichen Salze der Verbindungen I, die sich durch Umsatz von Verbindungen I mit einer geeigneten Säure oder Base erhalten lassen.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Piperidin-Ketocarbonsäure-40 Derivate I kann auf verschiedenen Wegen erfolgen, die in den Schemata 1 und 2 skizziert wurden.

Ausgehend von Piperidincarbonsäuren II erhält man durch Umsatz unter üblichen Bedingungen mit "aktivierten" Säure-Derivate 45 R<sub>1</sub>-L, wobei L eine Abgangsgruppe wie Cl, Imidazol und N-Hydroxybenzotriazol darstellt, das Derivat III. Diese Reaktion erfolgt in wasserfreien, inerten Lösungsmitteln wie Methylchlorid,

## 6

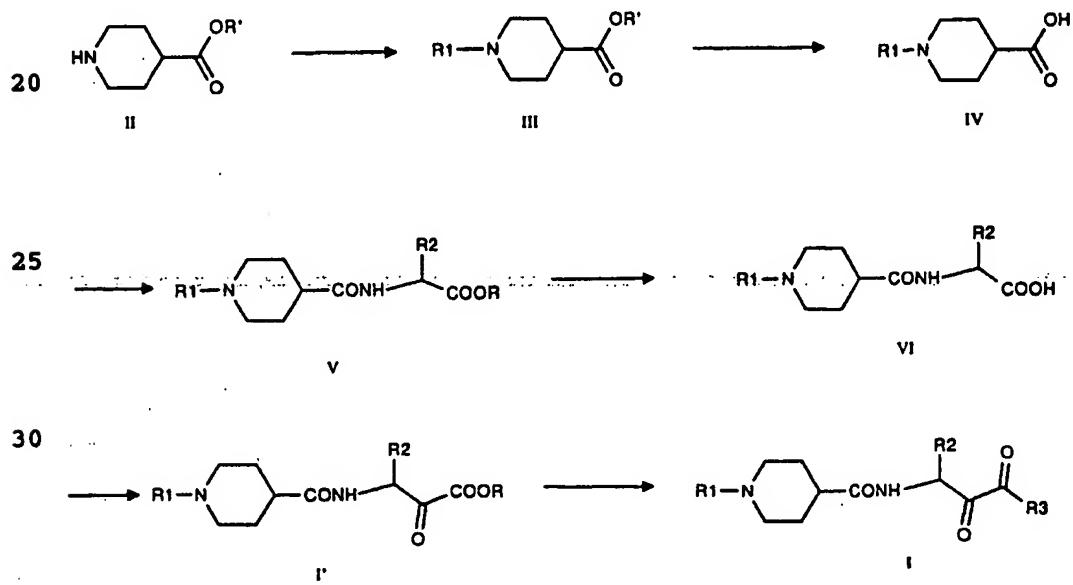
Tetrahydrofuran und Dimethylformamid bei Temperaturen von -20 bis +25°C und wird in der Regel unter üblichen Bedingungen wie sie in Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, 4.Aufl., E5, Kap. V, zusammengefaßt sind.

5

Die Piperidincarbonsäureester III werden mit Säuren oder Basen wie Lithiumhydroxid, Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid in wäßrigen Medium oder in Gemischen aus Wasser und organischen Lösungsmitteln wie Alkohole oder Tetrahydrofuran bei Raumtemperatur oder erhöhten Temperaturen, wie 25-100°C, in die Säuren IV überführt.

Diese Säuren IV werden mit einem  $\alpha$ -Aminosäure-Derivat verknüpft, wobei man die üblichen Bedingungen wie oben benutzt, die im Houben-Weyl aufgelistet sind.

Schema 1



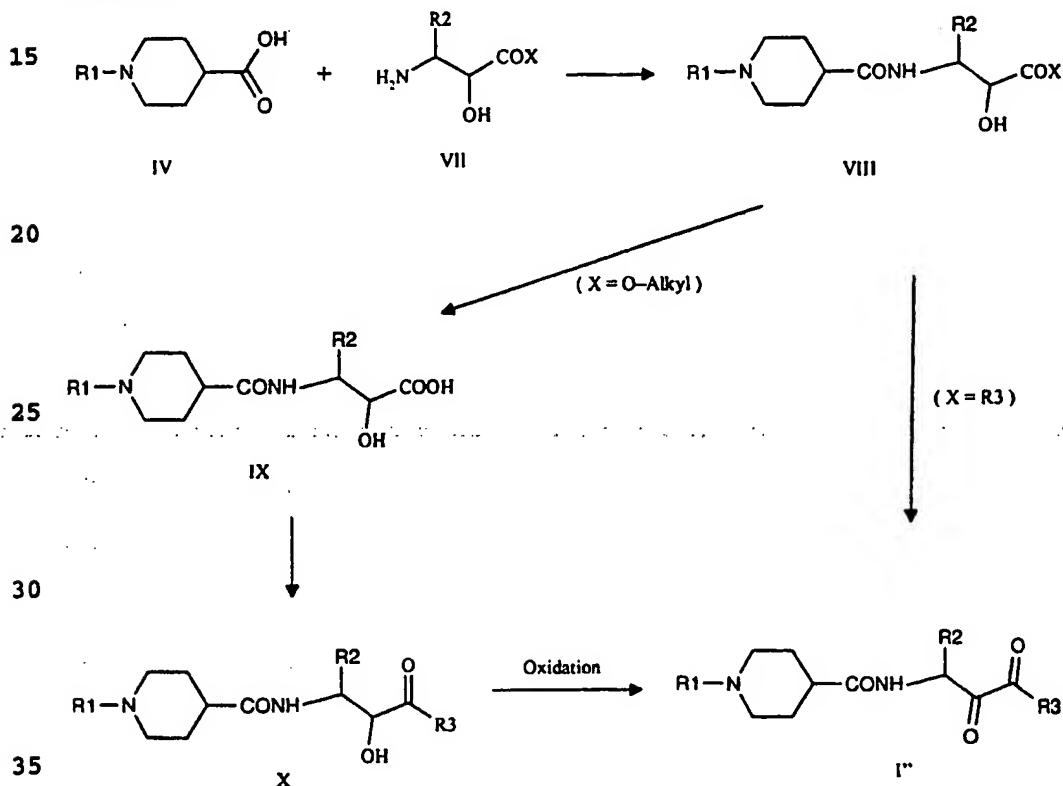
35

Die Derivate V, die in der Regel Ester darstellen, werden analog der oben beschriebenen Hydrolyse in die Ketocarbonsäuren VI überführt. In einer Dakin-West analogen Reaktion werden die Ketoester VII hergestellt, wobei nach einer Methode von ZhaoZhao Li et al. J.Med.Chem., 1993, 36, 3472-80 gearbeitet wird. Dabei werden eine Karbonsäuren wie V bei erhöhter Temperatur (50-100°C) in Lösungsmitteln wie Tetrahydrofuran mit Oxalsäuremonoesterchlorid umgesetzt und anschließend das so erhaltene Produkt mit Basen wie Natriumethanolat in Ethanol bei Temperaturen von 25-80°C zum erfindungsgemäßen Ketoester I' umgesetzt. Die Ketoester I'

können, wie oben beschrieben, zum Beispiel zu erfindungsgemäßen Ketocarbonsäuren hydrolysiert werden.

Die Umsetzung zu Ketoamiden I' erfolgt ebenfalls analog der 5 Methode von ZhaoZhao Li et al. (s. oben). Die Ketogruppe in I' wird durch Zugabe von 1,2-Ethandithiol unter Lewissäure-Katalyse, wie zum Beispiel Bortrifluoridetherat, in inerten Lösungsmitteln, wie Methylenechlorid, bei Raumtemperatur geschützt, wobei ein Dithian anfällt. Diese Derivate werden mit Aminen R<sup>3</sup>-H in polaren 10 Lösungsmitteln, wie Alkohole, bei Temperaturen von 0-80°C umgesetzt, wobei die Ketoamide I' anfallen.

Schema 2



Eine alternative Methode ist im Schema 2 dargestellt. Die Piperidin-ketocarbonsäuren IV werden mit Aminohydroxicarbonsäure-Derivaten VII (siehe S.L.Harbenson et al., J.Med.Chem. 1994, 37, 2918-29) unter üblichen Peptid-Kupplungs-Methoden (siehe oben, Houben-Weyl) umgesetzt, wobei Amide VIII anfallen. Diese Alkohol-Derivate VIII können zu den erfindungsgemäßen Ketocarbonsäure-Derivaten I' oxidiert werden. Dafür kann man verschiedene übliche Oxidationsreaktionen (siehe C.R.Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publisher, 1989, Seite 604 f.) wie zum Beispiel Swern- und Swern-analoge Oxidationen ( T.T.Tidwell,

Synthesis 1990, 857-70) oder Natriumhypochlorid/TEMPO (S.L.Harbenson et al., siehe oben) benutzen.

Wenn VIII  $\alpha$ -Hydroxyester darstellen ( $X = O\text{-Alkyl}$ ), können diese zu Carbonsäuren IX hydrolysiert werden, wobei analog zu den obigen Methoden gearbeitet werden, bevorzugt aber mit Lithiumhydroxid in Wasser/Tetrahydrofuran-Gemischen bei Raumtemperatur. Die Herstellung von anderen Estern oder Amiden X erfolgt durch Umsetzung mit Alkoholen oder Aminen unter bereits beschriebenen Kupplungsbedingungen. Das Alkohol-Derivat X kann erneut zu erfundungsgemäßen Ketocarbonsäure-Derivaten I oxidiert werden.

Die in der vorliegenden Erfindung enthaltenen Keton-Derivate I stellen Inhibitoren von Cystein-Proteasen dar, insbesondere Cystein-Proteasen wie die Calpaine I und II und Cathepsine B bzw. L.

Die inhibitorische Wirkung der Keton-Derivate I wurde mit in der Literatur üblichen Enzymtests ermittelt, wobei als Wirkmaßstab eine Konzentration des Inhibitors ermittelt wurde, bei der 50% der Enzymaktivität gehemmt wird (= IC<sub>50</sub>). Die Keton-Derivate I wurden in dieser Weise auf Hemmwirkung von Calpain I, Calpain II und Cathepsin B gemessen.

#### 25 Cathepsin B-Test

Die Cathepsin B-Hemmung wurde analog einer Methode von S.Hasnain et al., J.Biol.Chem. 1993, 268, 235-40 bestimmt.

Zu 88 $\mu$ L Cathepsin B (Cathepsin B aus menschlicher Leber (Calbiochem), verdünnt auf 5 Units in 500 $\mu$ M Puffer) werden 2 $\mu$ L einer Inhibitor-Lösung, hergestellt aus Inhibitor und DMSO (Endkonzentrationen: 100 $\mu$ M bis 0,01 $\mu$ M). Dieser Ansatz wird für 60 Minuten bei Raumtemperatur (25°C) vorinkubiert und anschließend die Reaktion durch Zugabe von 10 $\mu$ L 10mM Z-Arg-Arg-pNA (in Puffer mit 10% DMSO) gestartet. Die Reaktion wird 30 Minuten bei 405nM im Mikrotiterplattenreader verfolgt. Aus den maximalen Steigungen werden anschließend die IC<sub>50</sub>'s bestimmt.

#### 40 Calpain I und II Test

Die Testung der inhibitorischen Eigenschaften von Calpain-Inhibitoren erfolgt in Puffer mit 50 mM Tris-HCl, pH 7,5; 0,1 M NaCl; 1 mM Dithiotreithol; 0,11 mM CaCl<sub>2</sub>, wobei das fluorogene Calpain-Substrat Suc-Leu-Tyr-AMC (25 mM gelöst in DMSO, Bachem/Schweiz) verwendet wird (Sasaki et al. J. Biol. Chem. 1984, Vol. 259, 12489-12494). Humanes  $\mu$ -Calpain wird aus Erythrozyten in Anlehnung

an die Methoden von Croall und DeMartino (BBA 1984, Vol. 788, 348-355) und Graybill et al. (Bioorg. & Med. Lett. 1995, Vol. 5, 387-392) isoliert. Nach mehreren chromatographischen Schritten (DEAE-Sepharose, Phenyl-Sepharose, Superdex 200 und Blue-Sepha-  
rose) erhält man das Enzym mit einer Reinheit < 95 %, beurteilt nach SDS-PAGE, Western Blot Analyse und N-terminaler Sequenzierung. Die Fluoreszenz des Spaltproduktes 7-Amino-4-methylcoumarin (AMC) wird in einem Spex-Fluorolog Fluorimeter bei  $\lambda_{\text{ex}} = 380 \text{ nm}$  und  $\lambda_{\text{em}} = 460 \text{ nm}$  verfolgt. In einem Meßbereich von 10 min. ist die Spaltung des Substrats linear und die autokatalytische Aktivität von Calpain gering, wenn die Versuche bei Temperaturen von 12°C durchgeführt werden (siehe Chatterjee et al. 1996, Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol 6, 1619-1622). Die Inhibitoren und das Calpainsubstrat werden in den Versuchsansatz 15 als DMSO-Lösungen gegeben, wobei DMSO in der Endkonzentration 2 % nicht überschreiten soll.

In einem typischen Versuchsansatz werden 10 µl Substrat (250 µM final) und anschließend 10 µl an µ-Calpain (2 µg/ml final, d.h. 18 nM) in eine 1 ml Küvette gegeben, die Puffer enthält. Die Calpain-vermittelte Spaltung des Substrats wird für 15 bis 20 min. gemessen. Anschließend Zugabe von 10 µl Inhibitor (50 bis 100 µM Lösung DMSO) und Messung der Inhibition der Spaltung für weitere 40 min. Ki-Werte werden nach der üblichen Gleichung für reversible Hemmung bestimmt, d.h.  $K_i = I(v_0/v) - 1$ ; wobei  $I = \text{Inhibitorkonzentration}$ ,  $v_0 = \text{Anfangsgeschwindigkeit vor Zugabe des Inhibitors}$ ;  $v_i = \text{Reaktionsgeschwindigkeit im Gleichgewicht bedeu- tet.}$

30 Plättchen-Test zur Bestimmung der zellulären Aktivität von Calpain-Inhibitoren

Der Calpain-vermittelte Abbau von Proteinen in Plättchen wurde, wie von Zhao ZhaoLi et al., J. Med. Chem., 1993, 36, 3472-3480 beschrieben, durchgeführt. Humane Plättchen wurden aus frischem Natrium-Citrat-Blut von Spendern isoliert und in Puffer (5 mM Hepes, 140 mM NaCl und 1 mg/ml BSA, pH 7,3) auf  $10^7$  Zellen/ ml eingestellt.

40 Plättchen (0,1ml) werden für 5 Minuten mit 1 µl an verschiedenen Konzentrationen an Inhibitoren (gelöst in DMSO) vorinkubiert. Danach erfolgte die Zugabe von Kalziumionophor A 23187 (1 µM im Test) und Kalzium (5 mM im Test) und eine weitere Inkubation von 5 Minuten bei 37°C. Nach einem Zentrifugationsschritt wurden die 45 Plättchen in SDS-Page Probenpuffer aufgenommen, 5 Minuten bei 95°C gekocht und die Proteine in einem 8% igen Gel aufgetrennt. Der Abbau der beiden Proteine Actin bindendes Protein (ABP) und Talin

10

wurde durch quantitative Densitometrie verfolgt, da nach der Zugebung von Kalzium und Ionophor diese Proteine verschwanden und eine neue Bande im Bereich von 200 Kd Molekulargewicht entstand. Daraus wird die halb maximale Enzymaktivität bestimmt.

5

#### Glutamat induzierter Zelltod an corticalen Neuronen

Der Test wurde, wie bei Choi D. W., Maulucci-Gedde M. A. and Kriegstein A. R. (1987) Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture. *J. Neurosci.* 7, 357-368, durchgeführt.

Aus 15 Tage alten Mäuseembryos wurden die Cortexhälften präpariert und die Einzelzellen enzymatisch (Trypsin) gewonnen. Diese Zellen (Glia und corticale Neuronen) werden in 24 Well-Platten ausgesät. Nach drei Tagen (Laminin beschichteten Platten) oder sieben Tagen (Ornithin beschichteten Platten) wird mit FDU (5-Fluor-2-Desoxyuridine) die Mitosebehandlung durchgeführt. 15 Tage nach der Zellpräparation wird durch Zugabe von Glutamat (15 Minuten) der Zelltod ausgelöst. Nach der Glutamatentfernung werden die Calpaininhibitoren zugegeben. 24 Stunden später wird durch die Bestimmung der Lactatdehydrogenase (LDH) im Zellkulturerüberstand die Zellschädigung ermittelt.

Man postuliert, daß Calpain auch eine Rolle im apoptotischen Zelltod spielt (M.K.T.Squier et al. *J.Cell.Physiol.* 1994, 159, 229-237; T.Patel et al. *Faseb Journal* 1996, 590, 587-597). Deshalb wurde in einem weiteren Modell in einer humanen Zelllinie der Zelltod mit Kalzium in Gegenwart eines Kalziumionophors ausgelöst. Calpain-Inhibitoren müssen in die Zelle gelangen und dort Calpain hemmen, um den ausgelösten Zelltod zu verhindern.

#### Kalzium-vermittelter Zelltod in NT2 Zellen

In der humanen Zelllinie NT2 läßt sich durch Kalzium in Gegenwart des Ionophors A 23187 der Zelltod auslösen.  $10^5$  Zellen/well wurden in Mikrotiterplatten 20 Stunden vor dem Versuch ausplattiert. Nach diesem Zeitraum wurden die Zellen mit verschiedenen Konzentrationen an Inhibitoren in Gegenwart von 2,5  $\mu\text{M}$  Ionophor und 5 mM Kalzium inkubiert. Dem Reaktionsansatz wurden nach 5 Stunden 40 0,05 ml XTT (Cell Proliferation Kit II, Boehringer Mannheim) hinzugegeben. Die optische Dichte wird nach ungefähr 17 Stunden, entsprechend den Angaben des Herstellers, in dem Easy Reader EAR 400 der Firma SLT bestimmt. Die optische Dichte, bei der die Hälfte der Zellen abgestorben sind, errechnet sich aus den beiden Kontrollen mit Zellen ohne Inhibitoren, die in Abwesenheit und Gegenwart von Ionophor inkubiert wurden.

## 11

Die Keton-Derivate I stellen Inhibitoren von Cystein-Proteasen wie Calpain I bzw. II und Cathepsin B bzw. L dar und können somit zur Bekämpfung von Krankheiten, die mit einer erhöhten Enzymaktivität der Calpain-Enzyme oder Cathepsin-Enzyme verbunden sind, dienen. Die vorliegenden Keton-Derivate I können danach zur Behandlung von neurodegenerativen Krankheiten, die nach Ischämie, Trauma und Massenblutungen auftreten, und von neurodegenerativen Krankheiten wie multipler Infarkt-Dementia, Alzheimer Krankheit und Huntington Krankheit und weiterhin zur Behandlung von Schädigungen des Herzens nach cardialen Ischämien, Schädigungen der Nieren nach renalen Ischämien, Skelettmuskelschädigungen, Muskeldystrophien, Schädigungen, die durch Proliferation der glatten Muskelzellen entstehen, coronaren Vasospasm, cerebralen Vasospasm, Katarakten der Augen, Restenosis der Blutbahnen nach Angioplastie dienen.

Zudem können die Keton-Derivate I bei der Chemotherapie von Tumoren und deren Metastasierung nützlich sein und zur Behandlung von Krankheiten, bei denen ein erhöhter Interleukin-1-Spiegel auftritt, wie bei Entzündungen und rheumatischen Erkrankungen, dienen.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen enthalten neben den üblichen Arzneimittelhilfstoffen eine therapeutisch wirksame Menge der Verbindungen I.

Für die lokale äußere Anwendung, zum Beispiel in Puder, Salben oder Sprays, können die Wirkstoffe in den üblichen Konzentrationen enthalten sein. In der Regel sind die Wirkstoffe in einer Menge von 0,0001 bis 1 Gew.-%, vorzugsweise 0,001 bis 0,1 Gew.-% enthalten.

Bei der inneren Anwendung werden die Präparationen in Einzeldosen verabreicht. In einer Einzeldosis werden pro kg Körpergewicht 0,1 bis 100 mg gegeben. Die Zubereitung können täglich in einer oder mehreren Dosierungen je nach Art und Schwere der Erkrankungen verabreicht werden.

Entsprechend der gewünschten Applikationsart enthalten die erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen neben dem Wirkstoff die üblichen galenischen Trägerstoffe und Hilfssmittel. Für die lokale äußere Anwendung können pharmazeutisch-technische Hilfsstoffe, wie Ethanol, Isopropanol, oxethyliertes Ricinusöl, oxethyliertes Hydriertes Ricinusöl, Polyacrylsäure, Polyethylen-glykol, Polyethylenglykostearat, ethoxylierte Fettalkohole, Paraffinöl, Vaseline und Wollfett, verwendet werden. Für die

## 12

innere Anwendung eignen sich zum Beispiel Milchzucker, Propylen-glykol, Ethanol, Stärke, Talk und Polyvinylpyrrolidon.

Ferner können Antioxidationsmittel wie Tocopherol und butyliertes Hydroxyanisol sowie butyliertes Hydroxytoluol, geschmacksver-bessernde Zusatzstoffe, Stabilisierungs-, Emulgier- und Gleit-mittel enthalten sein.

Die neben dem Wirkstoff in der Zubereitung enthaltenen Stoffe 10 sowie die bei der Herstellung der pharmazeutischen Zubereitungen verwendeten Stoffe sollen toxikologisch unbedenklich und mit dem jeweiligen Wirkstoff verträglich sein. Die Herstellung der Arzneimittelzubereitungen erfolgt in üblicher Weise, zum Beispiel durch Vermischung des Wirkstoffes mit anderen üblichen Träger-stoffen und Verdünnungsmitteln.

Die Herstellung von Arzneimittelzubereitungen geschieht durch dem Fachmann geläufige Verfahren (s. z.B. H. Sucker et al., Pharma-zentische Technologie, Thieme Verlag, Stuttgart, 1991).

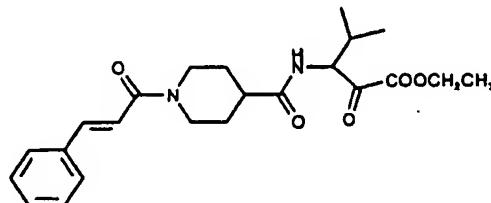
20 Die Arzneimittelzubereitungen können in verschiedenen Appli-kationsweisen verbreicht werden, zum Beispiel peroral, parenteral wie intravenös durch Infusion, subkutan, intraperitoneal und topisch. So sind Zubereitungsformen wie Tabletten, Emulsionen, 25 Infusions- und Injektionslösungen, Pasten, Salben, Gele, Cremes, Lotionen, Puder und Sprays möglich.

#### Beispiele

##### 30 Beispiel 1

4-Methyl-2-oxo-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)piperidin-4-yl)amido-valeriansäureethylester

35



40

a) 1-(E-Phenyl-1-acryloyl)piperidinyl-4-carbonsäure

45 32.0g (0.248 Mol) Piperidin-4-carbonsäure wurden in 500 ml Pyridin gelöst und anschließend portionsweise mit 43.3g (0.26 Mol) Zimtsäurechlorid versetzt. Alles wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand zwischen 2M Salzsäure und

## 13

Essigsäureethylester verteilt. Die organische Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 47.0g (76%) des Produktes. Schmp.: 178-179°C.

5 b) 4-Methyl-2-(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)amido-buttersäuremethylester

20.0g (77.1 mMol) des Produktes 1a und 12.5g (77.1 mMol) L-Valinmethylesterhydrochlorid wurden in 350 ml Methylenchlorid gegeben und unter Eiskühlung tropfenweise mit 25.6 ml (185,1 mMol) Triethylamin versetzt. Man rührte 1h und gab anschließend 3.1g (23.1 mMol) 1-Hydroxy-1H-benzotriazol (HOBT) zu. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0°C gekühlt und danach portionsweise mit 14.8 g (77.1 mMol) N'-(3-Dimethylamino-propyl)-N-ethylcarbodiimid (EDC) versetzt. Alles wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde organische Phase mit Wasser, wäßriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung, 5%iger Zitronensäure-Lösung und erneut mit Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 27.3g (96%) des Produktes.

1H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.9$  (6H), 1.6-2.0 (3H), 2.2 (1H), 2.5 (1H), 2.8 (1H), 3.2 (1H), 3.8 (3H), 4.2 (1H), 4.6 (1H), 4.7 (1H), 6.0 (1H), 6.9 (1H), 7.3-7.6 (5H) und 7.6 (1H) ppm.

25 c) 4-Methyl-3-(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)piperidin-4-yl)amido-buttersäure

27.0g (72.5 mMol) des Produktes 1c wurden in 200ml Tetrahydrofuran gelöst und mit 3.5g (145 mMol) Lithiumhydroxid, gelöst in 250 ml Wasser, versetzt. Alles wurde für 1h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Tetrahydrofuran im Vakuum entfernt und die resultierende wäßrige Lösung mit Essigester extrahiert. Danach wurde diese mit 1M salzsäure neutralisiert und erneut mit Essigester extrahiert. Die letztere organische Phase wurde getrocknet und im Vakuum eingeengt, wobei 26g (100%) des Produktes erhalten wurden.

40 1H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta = 1.0$  (6H), 1.6-2.2 (6H), 2.5 (1H), 2.9 (1H), 3.2 (1H), 4.6 (2H), 6.4 (2H), 6.4 (1H), 6.9 (1H), 7.3-7.6 (5H) und 7.7 (1H) ppm.

45 d) 4-Methyl-2-oxo-3-(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)piperidin-4-yl)-amidovaleriansäureethylester

## 14

26.0g (72.5 mMol) des Produktes 1c, 0.9g (7.25 mMol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) und 23.4 ml (0.29 Mol) Pyridin wurden in 150 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst. Anschließend tropfte man zügig 16.2 ml (0.15 Mol) Oxalsäuremonoethylesterchlorid zu, so daß die Temperatur auf ca. 50°C anstieg. Für weitere 3 h wurde alles unter Rückfluß gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach gab man vorsichtig 100 ml Wasser zu und rührte erneut für ca. 30 Minuten. Der Ansatz wurde zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase wurde noch mehrmals mit Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingeengt.

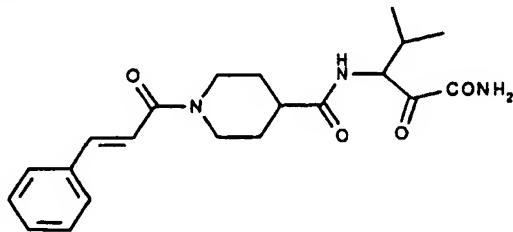
Der so erhaltene Enolester wurde in 200ml Ethanol gelöst, mit 0.47g (5.6mMol) Kaliummethanolat versetzt und für 16h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde alles im Vakkum eingeengt und der Rückstand chromatographisch (Fließmittel: Methylenechlorid/Methanol = 20/1) gereinigt, wobei 10.8 g (36%) des Produktes anfielen.

MS (FAB) : m/e = 414 (M<sup>+</sup>).

## Beispiel 2

25 4-Methyl-2-oxo-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)piperidin-4-yl)amido-valeriansäureamid

30



35 a) 2,2-Ethylendimercapto-4-methyl-E-3-(1-(3-phenyl)-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)amido-valeriansäureethylester

6.0g (14.6 mMol) des Produktes 1d und 1.5 ml (17.5 mMol) 1,2-Ethandithiol wurden in 20ml wasserfreiem Methylenchlorid gelöst und mit 4 ml Bortrifluoridetherat versetzt. Alles wurde für 16h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit 10ml Methylenchlorid verdünnt und 3x mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet und im Vakuum eingeengt, wobei 7.3g eines Rohproduktes anfielen, das ungereinigt weiter umgesetzt wurde..

15

b) 4-Methyl-2-oxo-3-(E-1(3-phenyl)-1-acryloyl)piperidin-4-yl)-amido-valeriansäureamid

1.7g (3.6 mMol) des Produktes 2a wurden in 20ml 2 M ethanolischer Ammoniak-Lösung eingetragen und für 16h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde alles im Vakuum eingeengt und der Rückstand chromatographisch (Fließmittel: Methylenchlorid/Methanol = 40/3) gereinigt, wobei 0.22g des Produktes anfielen.

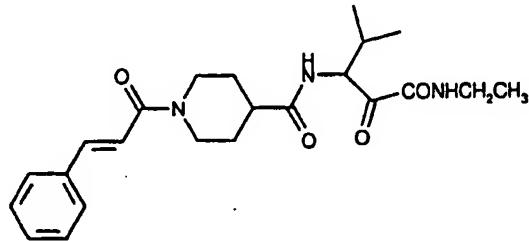
10

MS (FAB) : m/e = 385 (M<sup>+</sup>).

### Beispiel 3

15 N-Ethyl-4-methyl-2-oxo-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)piperidin-4-yl)amido-valeriansäureamid

20



25

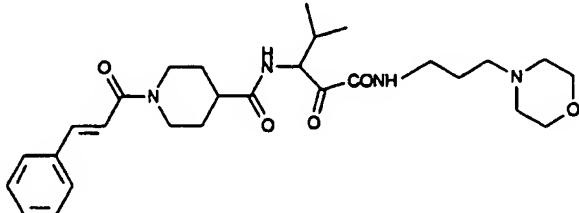
1.7g (3.6mMol) des Produktes 2a wurden analog der Vorschrift 2b in ethanolischer Ethylamin-Lösung umgesetzt, wobei 0.15g des Produktes anfielen.

30 MS (FAB) : m/e = 413 (M<sup>+</sup>).

### Beispiel 4

4-Methyl-N-(3-(morpholino-1-yl)-propyl)-2-oxo-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)piperidin-4-yl)-amido-valeriansäureamid

40



45

## 16

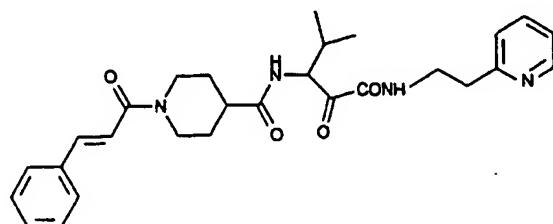
1.3g (3.6 mMol) des Produktes 2a und 0.8g (5.4 mMol) 3-(Morpholino-1-yl)-propylamin wurden analog der Vorschrift 2b umgesetzt und man erhielt 1.1g des Produktes.

5 MS (FAB) : m/e = 512 (M<sup>+</sup>).

## Beispiel 5

4-Methyl-2-oxo-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)piperidin-4-yl)-amido-  
10 N-(2-(pyrid-2-yl)ethyl)-valeriansäureamid

15



20 1.3g (2.8 mMol) des Produktes 2a und 0.7g (5.5 mMol) 2-(2-Aminoethyl)pyridin wurden analog der Vorschrift 2b umgesetzt und man erhielt 0.85g des Produktes.

MS (FAB) : m/e = 490 (M<sup>+</sup>).

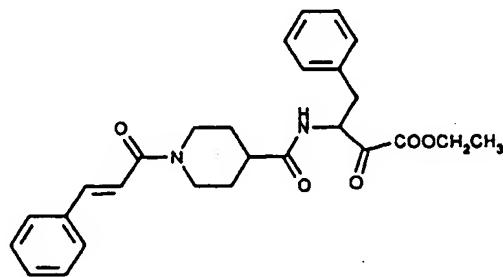
25

## Beispiel 6

2-Oxo-4-phenyl-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-buttersäureethylester

30

35



40

a) 3-Phenyl-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-propionsäuremethylester

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 1b aus dem Zwischenprodukt 1a und Phenylalaninmethylester hergestellt.  
45

17

1H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : δ = 1.6-2.0 (3H), 2.35 (1H), 2.9 (1H), 3.0-3.3 (4H), 3.7 (3H), 4.1 (1H), 4.6 (1H), 4.9 (1H), 5.9 (1H), 6.9 (1H), 7.1 (2H) und 7.2-7.7 (9H) ppm.

5 b) 3-Phenyl-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-propionsäure

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 1c aus dem Zwischenprodukt 6a hergestellt.

10

1H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : δ = 1.4-2.0 (4H), 2.3 (1H), 2.8 (1H), 3.0-3.4 (3H), 4.0 (1H), 4.6 (1H), 4.9 (1H), 4.9 (1H), 6.2 (1H), 6.8 (1H), 7.0-7.8 (11H) und ca. 8.2 (breit) ppm.

15 c) 2-Oxo-4-phenyl-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-buttersäureethylester

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 1d aus dem Zwischenprodukt 6b hergestellt.

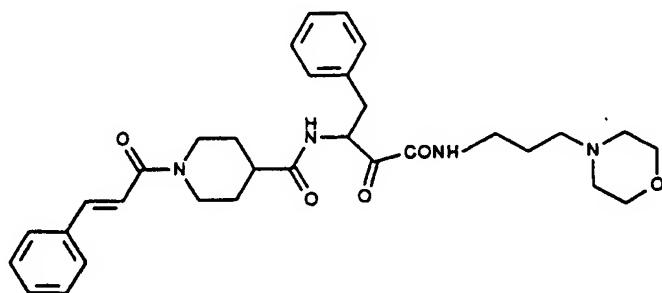
20

MS (FAB) : m/e = 462 (M<sup>+</sup>).

#### Beispiel 7

25 N-(3(Morpholin-1-yl)propyl)-2-oxo-4-phenyl-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-buttersäureamid

30



35

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 2b aus dem Beispiel 6 und 1-(3-Aminopropyl)-morpholin hergestellt.

40

1H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : δ = 1.4-1.9 (6H), 2.3-2.6 (6H), 2.8 (1H), 2.2 (2H), 2.3-2.5 (3H), 2.6-2.8 (4H), 4.1 (1H), 4.6 (1H), 5.5 (1H), 6.1 (1H), 6.9 (1H), 7.1 (1H), 7.2-7.7 (10H) und 8.9 (1H) ppm.

45

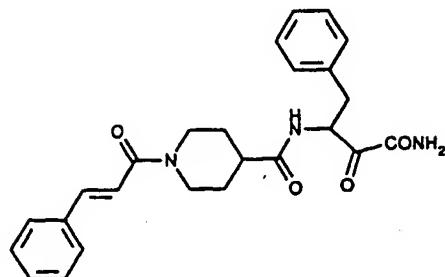
18

## Beispiel 8

2-Oxo-4-phenyl-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-buttersäureamid

5

10



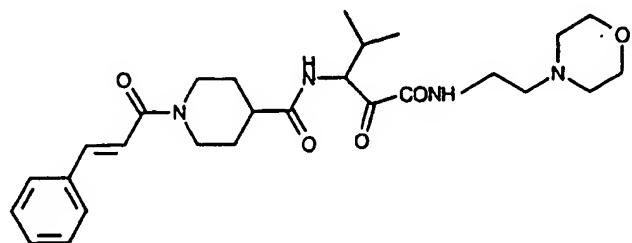
20

## Beispiel 9

4-Methyl-N(2-(morpholin 1-yl)ethyl)-2-oxo-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-valeriansäureamid

25

30



35

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 2b aus dem Zwischenprodukt 2a und 1-(2-Aminoethyl)-morpholin hergestellt.

MS : m/e = 498 (M<sup>+</sup>).

40

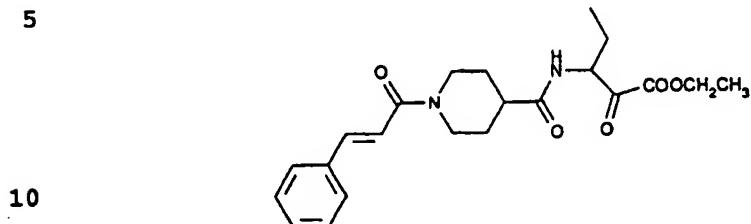
45

19

## Beispiel 10

2-Oxo-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-valeriansäureethylester

5



a) 3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-buttersäureethylester

15

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 1b aus dem Zwischenprodukt 1a und 2-Amino-buttersäuremethylester hergestellt.

20

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : δ = 0.9 (3H), 1.6-2.0 (6H), 2.5 (1H), 2.9 (1H), 3.2 (1H), 3.8 (3H), 4.2 (1H), 4.5-4.7 (2H), 6.3 (1H), 6.9 (1H), 7.4 (3H), 7.6 (2H) und 7.7 (1H) ppm.

b) 3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-buttersäure

25

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 1c aus dem Zwischenprodukt 10a hergestellt.

30

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO) : δ = 0.9 (3H), 1.3-1.9 (6H), 2.6 (1H), 2.7 (1H), 3.1 (1H), 4.1 (1H), 4.3 (1H), 4.5 (1H), 7.2-7.6 (5H), 7.7 (2H), 8.0 (1H) und 12.5 (breit) ppm.

c) 2-Oxo-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-valeriansäureethylester

35

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 1d aus dem Zwischenprodukt 10b hergestellt.

40

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : δ = 0.9 (3H), 1.4 (3H), 1.8-2.2 (6H), 2.5 (1H), 2.8 (1H), 3.2 (1H), 4.2 (1H), 4.4 (2H), 4.6 (1H), 5.1 (1H), 6.7 (1H), 6.9 (1H), 7.4 (3H), 7.5 (2H) und 7.7 (1H) ppm.

45

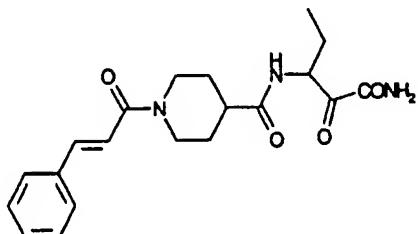
20

## Beispiel 11

2-Oxo-3(1-(E-3-phenyl-1-acryloyl)-piperidin-4-yl)-amido-valeriansäureamid

5

10



Das Produkt wurde analog der Vorschriften 2a,b aus dem Produkt 10 und ethanolischer Ammoniak-Lösung hergestellt.

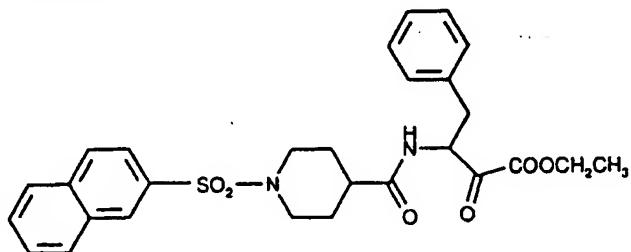
15

MS : m/e = 371 (M<sup>+</sup>).

## Beispiel 12

20 3(1-(2-Naphthylsulfonyl)-piperidin-4-yl)-amido-2-oxo-4-phenylbuttersäureethylester

25



30

a) 1-(2-Naphthylsulfonyl)-piperidin-4-carbonsäure

26.0g (0.2 Mol) Piperidin-4-carbonsäure wurden in 250 ml Pyridin gelöst und bei Raumtemperatur portionsweise mit 47.6g (0.2 Mol) 2-Naphthylsulfonsäurechlorid versetzt. Alles wurde für ca. 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand zwischen Essigester und 2 M Salzsäure verteilt. Die organische Phase wurde getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 48.5g (75%) des Produktes.

40

b) 3(1-(2-Naphthylsulfonyl)-piperidin-4-yl)amido-2-oxo-4-phenylpropionsäureethylester

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 1b aus dem Zwischenprodukt 12a hergestellt.

**21**

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO) : δ = 1.1 (3H), 1.4-1.8 (5H), 2.3-2.6 (2H), 2.7-3.2 (3H), 3.5-3.8 (2H), 4.0 (2H), 4.5 (1H), 7.2 (4H), 7.7 (3H), 8.1-8.3 (3H) und 8.5 (1H) ppm.

5 c) 3(1-(2-Naphthylsulfonyl)-piperidin-4-yl)amido-2-oxo-4-phenyl-propionsäure

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 1c aus dem Zwischenprodukt 12b hergestellt.

10

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO) : δ = 1.3-1.8 (5H), 2.3-2.6 (3H), 2.8-3.2 (2H), 3.4-3.8 (2H), 4.4 (1H), 7.2 (4H), 7.7 (3H), 8.0-8.3 (4H) und 8.4 (1H) ppm.

15 d) 3(1-(2-Naphthylsulfonyl)-piperidin-4-yl)amido-2-oxo-4-phenylbuttersäureethylester

Das Produkt wurde analog der Vorschrift 1d aus dem Zwischenprodukt 12c hergestellt.

20

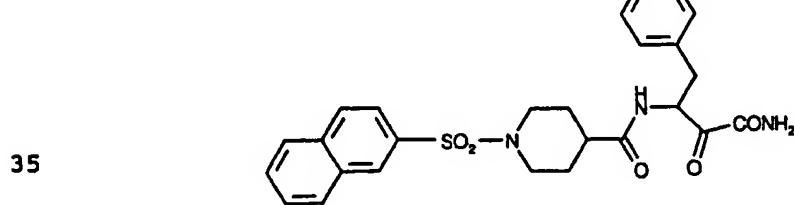
<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO) : δ = 1.2 (3H), 1.3-1.9 (4H), 2.2 (1H), 2.3-2.5 (2H), 2.8 (1H), 3.1 (1H), 3.6 (2H), 4.2 (2H), 4.4 (1H), 7.0-7.3 (5H), 7.7 (3H), 8.0-8.3 (3H) und 8.4 (2H) ppm.

25

## Beispiel 13

3(1-(2-Naphthylsulfonyl)-piperidin-4-yl)-amido-2-oxo-4-phenylbuttersäureamid

30



Das Produkt wurde analog den Vorschriften 2a,b aus dem Beispiel 12 hergestellt.

40

MS (FAB) : m/e = 493 (M<sup>+</sup>).

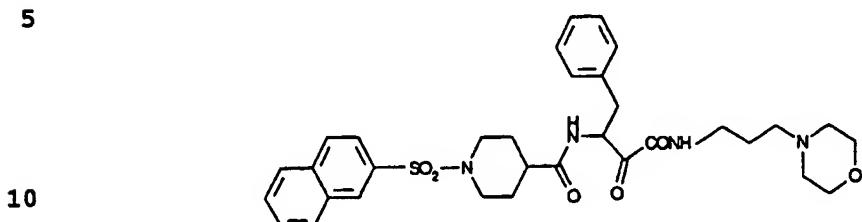
45

22

## Beispiel 14

N-(3-(Morpholin-1-yl)prop-1-yl)-3-(1-(2-naphthylsulfonyl)-piperidin-4-yl)-amido-2-oxo-4-phenyl-buttersäureamid

5



Das Produkt wurde analog der Vorschriften 2a,b aus dem Produkt 12 und 1-(3-AMino-prop-1-yl)-morpholin hergestellt.

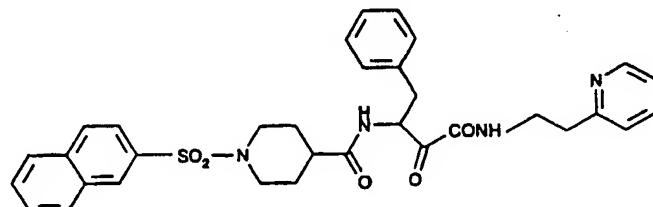
15

MS (FAB) : m/e = 620 (M<sup>+</sup>).

## Beispiel 15

20 3(1-(2-Naphthylsulfonyl)-piperidin-4-yl)-amido-2-oxo-4-phenyl-N(2-(2-pyridyl)-ethyl)-buttersäureamid

25



30 Das Produkt wurde analog den Vorschriften 2a,b aus dem Beispiel 12 und 2-(2-Aminoethyl)-pyridin hergestellt.

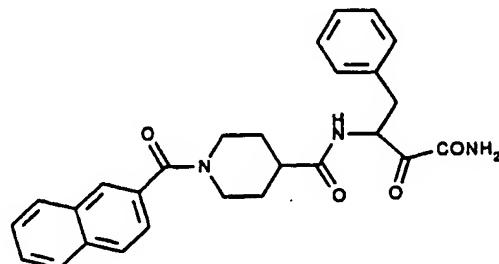
MS (FAB) : m/e = 598 (M<sup>+</sup>).

## 35 Beispiel 16

3(S)-(1-(2-Naphthoyl)-piperidin-4-yl)-amido-2-oxo-4-phenyl-buttersäureamid

40

45



## 23

a) 3(S)-(N-tert.Boc-amino)-2(R,S)-hydroxy-4-phenyl-buttersäureamid

17.7g (60mMol) 3(S)-(N-tert.-Boc-amino)-2-(R,S)-hydroxy-4-phenyl-buttersäure (S.L.Harenson et al., J.Med.Chem. 1994, 37, 2918-29) und 8.1g (60mMol) 1-Hydroxybenzotriazol wurden in 150 ml wasserfreiem Dimethylformamid gelöst. Bei -5°C gab man nacheinander 12.6g (66mMol) N'-(3-Dimethylamino-propyl)-N-ethylcarbodiimidhydrochlorid und 48ml (ca. 2 molar) ethanolische Ammoniak-Lösung zu und rührte für ca. 1h bei dieser Temperatur. Anschließend wurde der Ansatz noch ca. 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 500ml Wasser zugegeben und alles mit Essigester extrahiert. Die organische Phase wurde mit verdünnter Natronlauge und Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde noch mit n-Heptan behandelt und der anfallende Niederschlag abgesaugt. Man erhielt 13.5g (76%) des Produktes.

1H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO) : δ = 1.3 (9H), 2.6-2.9 (2H), 3.7 (1H), 5.7 (1H), 6.2 (1H) und 7.3 (5H) ppm.

b) 3(S)-Amino-2(R,S)-hydroxy-4-phenyl-buttersäureamid

13.4g (46mMol) der Verbindung 17a wurden in 300 ml Methylenchlorid gelöst und mit 100 ml Trifluoressigsäure versetzt. Alles wurde für 1h bei Raumtemperatur gerührt und danach im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde zwischen Wasser und Ether Verteilt und anschließend die wäßrige Phase im Vakuum eingeengt. Man erhielt 12.3g (88%) des Produktes als Tri-fluoracetat.

c) 2-(R,S)-Hydroxy-3(S)-(1-(2-naphthoyl)-piperidin-4-yl)-amido-4-phenyl-buttersäureamid

1.1g (3.6 mMol) der Verbindung 17b wurden analog der Vorschrift 17a mit 1.0g(3.6mMol) 1-(2-Naphthoyl)piperidin-4-carbonsäure umgesetzt. Man erhielt 1.0g (61%) des Produktes.

1H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO) : δ = 1.2-1.9 (6H), 2.6-3.2 (4H), 3.6 (1H), 3.7-4.0 (1H), 4.0 (1H), 4.2-4.6 (2H), 5.8 (1H) und 7.0-8.2 (14H) ppm.

## 24

d) 3(S)-(1-(2-Naphthoyl)-piperidin-4-yl)-amido-2-oxo-4-phenylbuttersäureamid

0.46g (1mMol) der Verbindung 17c und 0.4g (4mMol) Triethylamin wurden in 10 ml Dimethylsulfoxid gelöst und bei Raumtemperatur mit 0.48g (3mMol) Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex, gelöst in 5 ml Dimethylsulfoxid, versetzt. Alles wurde 16h gerührt. Danach gab man 150 l Wasser zu und saugte den Niederschlag ab. Man erhielt 0.33g (72%) des Produktes.

MS : m/e = 457 (M<sup>+</sup>).

Nach der im Beispiel 16 aufgeführten Methode können folgende Beispiele der allgemeinen Formel I hergestellt werden:

15

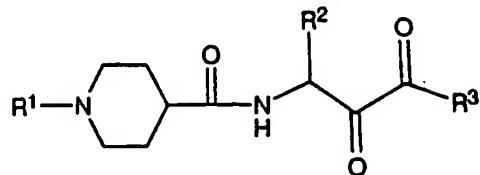
	Beispiel-Nr.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
20	17		CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>
25	18		CH <sub>2</sub> Ph	NH <sub>2</sub>
30	19		CH <sub>2</sub> Ph	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -
35	20		CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>
40	21		CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>
45	22		CH <sub>2</sub> Ph	NH <sub>2</sub>
	23		CH <sub>2</sub> Ph	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -
	24		CH <sub>2</sub> Ph	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
	25		CH <sub>2</sub> Ph	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -
	26		CH <sub>2</sub> -	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -

Beispiel-Nr.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
27 5			NH <sub>2</sub>
28 10		CH <sub>2</sub> Ph	NH <sub>2</sub>
29 15		CH <sub>2</sub> Ph	NH <sub>2</sub>
30 20		CH <sub>2</sub> Ph	NH <sub>2</sub>
31 25		CH <sub>2</sub> Ph	NH <sub>2</sub>
32 30		CH <sub>2</sub> Ph	CONH <sub>2</sub>
33 35		CH <sub>2</sub> Ph	CONH <sub>2</sub>
34 35		CH <sub>2</sub> Ph	CONH <sub>2</sub>
35 36		CH <sub>2</sub> Ph	CONH <sub>2</sub>
36 37		CH <sub>2</sub> Ph	CONH <sub>2</sub>
37 35		CH <sub>2</sub> Ph	CONH <sub>2</sub>

## Patentansprüche

## 1. Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der allgemeinen Formel I

5



10

und ihre tautomeren und isomeren Formen, sowie physiologisch verträgliche Salze davon, worin die Variablen folgende Bedeutung haben:

15

R<sup>1</sup> —CO-R<sup>4</sup>, —SO<sup>2</sup>-R<sup>4</sup>, —CONH-R<sup>4</sup>, —COOR<sup>4</sup>, —C(=N)-R<sup>4</sup>, —C(=O)-NHR<sup>4</sup>  
und —C(=S)-NHR<sup>4</sup>;

20

R<sup>2</sup> —C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, und der noch einen Phenyl, Pyridin oder Naphthyl-Ring tragen kann, der seinerseits mit maximal zwei Resten R<sup>5</sup> substituiert sein kann, wobei R<sup>5</sup> C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, —O-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, OH, Cl, F, Br, J, CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CN, COOH, COO-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, —NHCO-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, —NHCOPh, —NHSO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, NHSO<sub>2</sub>-Ph, —SO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl und —SO<sub>2</sub>Ph bedeuten kann;

25

R<sup>3</sup> —OR<sup>6</sup> und —NHR<sup>6</sup>;

30

R<sup>4</sup> —C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, wobei eine Kette aus zwei oder mehr C-Atomen auch eine Doppelbindung oder Dreifachbindung enthalten kann und mit einem oder zwei Ringen wie Phenyl, Naphthalin, Chinoxalin, Chinolin, Isochinolin, Pyridin, Thiophen, Benzothiophen, Benzofuran, Pyrimidin, Thiazol, Isothiazol, Triazol, Imidazol, Cyclohexyl, Cyclopentyl, Fluoren, Indol, Benzimidazol, Oxazol, Isooxazol und Furan substituiert sein kann, wobei jeder der Ringe selbst noch maximal zwei Reste R<sup>5</sup> tragen kann;

40

R<sup>6</sup> Wasserstoff, einen Phenyl-Ring, der noch einen oder zwei Reste R<sup>5</sup> tragen kann, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt, das eine Doppelbindung oder eine Dreifachbindung enthalten kann, und einen Ring wie Phenyl, Naphthalin, Pyridin, Pyrimidin, Piperidin, Pyrrolidin, Morpholin,

45

27

Thiophen, Chinolin und Isochinolin tragen kann, wobei die aromatischen Ringe noch maximal zwei Reste -NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup> oder R<sup>5</sup> tragen können, wobei R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> unabhängig voneinander Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt oder unverzweigt.

5

2. Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der Formel I gemäß dem Anspruch 1, wobei

R<sup>1</sup> -C(=O)R<sup>4</sup>, -SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>.

10 R<sup>2</sup> -C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, verzweigt und unverzweigt, -CH<sub>2</sub>-Ph und -CH<sub>2</sub>-Pyridyl,

R<sup>3</sup> -OR<sup>6</sup> und -NHR<sup>6</sup> bedeuten und

R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> und R<sup>6</sup> die Bedeutung gemäß Anspruch 1 haben.

15 3. Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der Formel I gemäß dem Anspruch 1, wobei

R<sup>1</sup> -C(=O)R<sup>4</sup>, -SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>,

R<sup>2</sup> -C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl und -CH<sub>2</sub>-Ph,

20 R<sup>3</sup> -NHR<sup>6</sup>,

R<sup>4</sup> -CH=CH-R<sup>9</sup> bedeutet, wobei R<sup>9</sup> ein Phenyl, Naphthalin oder Chinolin sein kann, und

R<sup>6</sup> Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, das mit einem Phenyl, Pyridin oder Morpholin substituiert sein kann, bedeuten.

25

4. Verwendung von Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivaten der Formel I gemäß Anspruch 1-3 zur Bekämpfung von Krankheiten.

30 5. Verwendung von Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivaten der Formel I gemäß Anspruch 1-3 als Inhibitoren von Cysteinproteasen.

6. Verwendung nach Anspruch 5 als Inhibitoren der Cysteinproteasen Calpain, Cathepsin B und -L.

35

7. Verwendung von Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der Formel I gemäß Anspruch 1-3 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten, bei denen erhöhte Calpain-Aktivitäten auftreten.

40

8. Verwendung der Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der Formel I gemäß Anspruch 1-3 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von neurodegenerativen Krankheiten und neuro-nalen Schädigungen.

45

9. Verwendung nach Anspruch 8 zur Behandlung von solchen neuro-degenerativen Krankheiten und neuronalen Schädigungen, die durch Ischämie, Trauma, oder Massenblutungen ausgelöst werden.
- 5 10. Verwendung nach Anspruch 9 zur Behandlung von Hirnschlag und Schädel-Hirntrauma.
11. Verwendung nach Anspruch 8 zur Behandlung der Alzheimerschen 10 Krankheit und der Huntington Krankheit.
12. Verwendung der Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der Formel I gemäß Anspruch 1-3 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen des Herzens nach cardialen 15 Ischämien, Schädigungen der Nieren nach renalen Ischämien, Sklelettmuskelschädigungen, Muskeldystrophien, Schädigungen, die durch Proliferation der glatten Muskelzellen entstehen, coronarer Vasospasmus, cerebraler Vasospasmus, Katarakten der Augen und Restenosis der Blutbahnen nach Angioplastie.
- 20 13. Verwendung der Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der Formel I gemäß Anspruch 1-3 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren und deren Metastasierung.
- 25 14. Verwendung der Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der Formel I gemäß dem Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten, bei denen erhöhte Inter-leukin-1-Spiegel auftreten.
- 30 15. Verwendung nach Anspruch 14 zur Behandlung von Entzündungen und rheumatischen Erkrankungen.
16. Arzneimittelzubereitungen zur peroralen, parenteralen und intraperitonealen Anwendung, enthaltend pro Einzeldosis, neben den üblichen Arzneimittelhilfsstoffen, mindestens ein 35 Piperidin-Ketocarbonsäure-Derivate der Formel 1 gemäß Anspruch 1-3.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte. .onal Application No

PCT/EP 97/05202

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 6 C07D211/62 C07D401/12 A61K31/445

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 IPC 6 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 520 336 A (FIJI REBIO INC.) 30 December 1992 cited in the application see claims ---	1-16
A	WO 95 00535 A (ALKERMES INC.) 5 January 1995 cited in the application see claims ---	1-16
A	WO 94 00095 A (CORTEX PHARM. INC.) 6 January 1994 cited in the application see claims ---	1-16
	-/-	

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

1

Date of the actual completion of the international search  19 January 1998	Date of mailing of the international search report  30 -01- 98
--	--

Name and mailing address of the ISA  
 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Chouly, J

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 97/05202

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 92 12140 A (GEORGIA TECH RES. CORP.) 23 July 1992 cited in the application see claims ---	1-16
A	WO 92 11850 A (CORTEX PHARM. INC.) 23 July 1992 cited in the application see claims -----	1-16

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**International application No.  
**PCT/EP 97/05202****Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  

**Note:** although claim(s) 4-6 refer(s) to a treatment method to be applied to  
human/animal bodies the search was made based on the indicated  
effects of the compound.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such  
an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all  
searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment  
of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report  
covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is  
restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

Inte. Jonal Application No

PCT/EP 97/05202

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 520336 A	30-12-92	JP 5163221 A CA 2071621 A,C JP 6287167 A KR 9511406 B JP 5345753 A	29-06-93 20-12-92 11-10-94 04-10-95 27-12-93
WO 9500535 A	05-01-95	US 5541290 A AU 7245294 A	30-07-96 17-01-95
WO 9400095 A	06-01-94	AU 4544993 A CA 2138124 A EP 0650368 A JP 9500087 T	24-01-94 06-01-94 03-05-95 07-01-97
WO 9212140 A	23-07-92	AU 654834 B AU 9155391 A CA 2098702 A EP 0564561 A JP 6504547 T US 5257901 A	24-11-94 17-08-92 29-06-92 13-10-93 26-05-94 02-11-93
WO 9211850 A	23-07-92	AU 5590596 A AU 667463 B AU 9152791 A CA 2098609 A EP 0564552 A JP 6504061 T US 5444042 A	22-08-96 28-03-96 17-08-92 29-06-92 13-10-93 12-05-94 22-08-95

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 97/05202

**A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 6 C07D211/62 C07D401/12 A61K31/445

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 6 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 520 336 A (FIJI REBIO INC.) 30. Dezember 1992 in der Anmeldung erwähnt siehe Ansprüche ---	1-16
A	WO 95 00535 A (ALKERMES INC.) 5. Januar 1995 in der Anmeldung erwähnt siehe Ansprüche ---	1-16
A	WO 94 00095 A (CORTEX PHARM. INC.) 6. Januar 1994 in der Anmeldung erwähnt siehe Ansprüche ---	1-16
		-/-



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* Alterses Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

1

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

19. Januar 1998

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

30-01-98

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Chouly, J

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 97/05202

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 92 12140 A (GEORGIA TECH RES. CORP.) 23.Juli 1992 in der Anmeldung erwähnt siehe Ansprüche ----	1-16
A	WO 92 11850 A (CORTEX PHARM. INC.) 23.Juli 1992 in der Anmeldung erwähnt siehe Ansprüche -----	1-16

1

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1.  Ansprüche Nr. weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich  
**Bemerkung: Obwohl der(die) Anspruch(üche) 4-6 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht(en), wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.**
2.  Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorge schriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3.  Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1.  Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2.  Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte; der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3.  Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4.  Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

## Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.  
 Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Int. nationales Aktenzeichen

PCT/EP 97/05202

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 520336 A	30-12-92	JP 5163221 A CA 2071621 A,C JP 6287167 A KR 9511406 B JP 5345753 A		29-06-93 20-12-92 11-10-94 04-10-95 27-12-93
WO 9500535 A	05-01-95	US 5541290 A AU 7245294 A		30-07-96 17-01-95
WO 9400095 A	06-01-94	AU 4544993 A CA 2138124 A EP 0650368 A JP 9500087 T		24-01-94 06-01-94 03-05-95 07-01-97
WO 9212140 A	23-07-92	AU 654834 B AU 9155391 A CA 2098702 A EP 0564561 A JP 6504547 T US 5257901 A		24-11-94 17-08-92 29-06-92 13-10-93 26-05-94 02-11-93
WO 9211850 A	23-07-92	AU 5590596 A AU 667463 B AU 9152791 A CA 2098609 A EP 0564552 A JP 6504061 T US 5444042 A		22-08-96 28-03-96 17-08-92 29-06-92 13-10-93 12-05-94 22-08-95